

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR BEEINFLUSSUNG
DER HAEMODYNAMIK PERFUNDIERTER MENSCHLICHER PLACENTEN
DURCH COFFEIN, PERVITIN UND SEROTONIN, DES WEITEREN
UNTERSUCHUNG DER WIRKUNG DES GLYKOSID STROPHANTHIN-k
AUF DEN AKTIVEN KALIUMRÜCKTRANSPORT
IN DER KÜNSTLICH AM LEBEN ERHALTENEN PLACENTA

VON

HANS JÜRGEN ISSELSTEIN

1966

Aus der Universitäts-Frauenklinik Mainz

Direktor: Prof. Dr. K. Thomsen

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR BEEINFLUSSUNG
DER HAEMODYNAMIK PERFUNDIERTER MENSCHLICHER PLACENTEN
DURCH COFFEIN, PERVITIN UND SEROTONIN, DES WEITEREN
UNTERSUCHUNG DER WIRKUNG DES GLYKOSID STROPHANTHIN-k
AUF DEN AKTIVEN KALIUMRÜCKTRANSPORT
IN DER KÜNDLICH AM LEBEN ERHALTENEN PLACENTA

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität zu Mainz

vorgelegt von

HANS JÜRGEN ISSELSTEIN

aus Meschede

MAINZ 1966

Dekan: Professor Dr. G. Korting
Referent: Professor Dr. K. Thomsen
Tag der mündl. Prüfung: 16.2.1966



Gesamtherstellung: Ditters Bürodienst Mainz

MEINEN LIEBEN ELTERN

GEWIDMET

INHALTSÜBERSICHT

Einleitung

Anatomie und Hämodynamik der Placenta

Material und Methode

A) Beschreibung der Apparatur

B) Durchführung des Versuches

C) Das Perfusat

Besprechung der Ergebnisse

Diskussion

Zusammenfassung

Literaturverzeichnis

EINLEITUNG

Untersuchungen am durchströmten fetalen Kreislauf isolierter menschlicher Placenten, verbunden mit der Frage nach den Reaktionen des fetalen Gefäßbettes und der Nabelschnurgefäße auf Reize, sind seit langem Gegenstand der experimentellen Forschung. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich im Rahmen der Untersuchungen des Herrn Prof. K. Thomsen über die Hämodynamik der menschlichen Placenta mit der Wirkung verschiedener Pharmaka auf den fetalen Placental-Kreislauf.

Es interessiert dabei die Frage, ob und in welchen Dosen Serotonin, Pervitin und Coffein einen Effekt auf die fetalen Gefäße der isolierten menschlichen Placenta auszuüben vermögen. Die Überprüfung vasoaktiver Substanzen scheint besonders im Hinblick auf die Ergebnisse von Flückiger und Salzmann wichtig, die 1961 bei trächtigen Ratten und Mäusen nach geringen subcutanen Gaben von Serotonin den Tod der Früchte und Infarzierungen der Placenten beobachtet hatten.

Zur Zeit werden an unserer Klinik Untersuchungen über die Ionenverschiebungen während der Perfusion menschlicher Placenten durchgeführt. Dabei ist festgestellt worden, daß der aktive Kaliumrücktransport bei der künstlichen Perfusion mit Elektrolytlösungen infolge einer Zellschädigung gehemmt wird und der Kaliumverlust des durchströmten Organes als Kriterium einer Zellschädigung zu bewerten ist (R. Gebhard und G. Bauer; persönliche Mitteilung). Da von dem Glykosid Strophanthin-k bekannt ist, daß es unter anderem den aktiven Kaliumrücktransport hemmen kann (Schatzmann, H.J.; 1953), soll in der anstehenden Arbeit weiterhin die Wirkung des Strophanthin-k auf den aktiven Kaliumrücktransport in der künstlich am Leben erhaltenen Placenta geprüft werden.

Für die experimentellen Untersuchungen, die an 55 intakten menschlichen Placenten ausgetragener Kinder vorgenommen wurden, schien die künstliche Durchströmung der Placenta die geeignete Methode. Schon Mosso (1873) konnte mit ihrer Hilfe die periphere Wirkung eines Giftes auf die Gefäßwände feststellen. "Fließt unter konstantem Druck eine Lösung in die Arterien eines Organes, so kann eine Zu- oder Abnahme der ausfließenden Menge nur auf einer Veränderung der Strombahn beruhen, deren Ursachen in der Gefäßwand selbst liegen."

Bei Durchsicht der Literatur fällt auf, daß die früheren Untersuchungen an perfundierten, isolierten menschlichen Placenten unter sehr unterschiedlichen Versuchsbedingungen durchgeführt wurden.

Schmitt (1922) führte als erster eine Durchströmung isolierter menschlicher Placenten durch. Ihn interessierte vor allem die Regulierung des fetalen Blutkreislaufs. Bei seinen Versuchen band er eine Glaskanüle in eine der Nabelschnurarterien, nahe der Einmündungsstelle in die Placenta, klemmte die andere Nabelschnurarterie ab und führte in die Nabelschnurvene ebenfalls eine Kanüle ein. Die Placenta hielt er während der gesamten Versuchsdauer in einem Wasserbad von konstant 38°C. Aus 1 m Höhe ließ er Ringerlösung von 37°C in die Nabelschnurarterie einströmen und nahm gleichzeitig eine Messung des Ausflusses der V. umbilicalis vor. Auch W. Rech (1924) wählte für seine Untersuchungen über den Eigenstoffwechsel der menschlichen Placenta eine Methode zur Durchströmung des isolierten Organs. Er schloß die Placenta zwischen 15 Minuten und 15 Stunden post partum an eine Durchströmungsapparatur an und perfundierte von beiden Nabelschnurarterien aus mit Ringerlösung, bis das Blut aus den Gefäßen weitgehend ausgespült war. Dann leitete er mit Sauerstoff gesättigtes defibriniertes Rinderblut ein, das 1 : 1 mit Ringerlösung verdünnt war. Küstner und Siedentopf (1929) verwendeten als Perfusionslösung menschliches Blut, das durch Natriumcitrat ungerinnbar gemacht und mit Ringerlösung 1 : 1 verdünnt war. Um eine Thrombosierung im placentaren Gefäßsystem zu vermeiden, setzten Dawson und Robson (1940) ihrem Perfusat Heparin zu. Aström und Samelius (1957) durchströmten mit Tyrodelösung mit Dextranzusatz, während Troen und Gordon (1958) zur Durchströmung eine Lösung benutzten, der sie Penicillin und Streptomycin gegen Verunreinigungen durch Bakterien hinzufügten. Ihre Perfusionslösung hatte folgende Zusammensetzung in mmol/l: NaCl 129,5, KCl 2,7, CaCl₂ 1,8, MgCl 0,5, NaH₂PO₄ 0,5, NaHCO₃ 11,9 und Citronensäure 5,0. Als Kriterium der Lebensfähigkeit der Placenta bestimmten sie deren Citratverbrauch. Mayer, Panigel und Tozum (1959) glaubten, die vasomotorischen Reaktionen in künstlich am Leben erhaltenen Placenten anhand von Röntgenaufnahmen beobachten zu können. Zur Erlangung der Röntgenbilder unterbrachen sie die Perfusion und spritzten ein Kontrastmittel in die fetalen Gefäße ein. Woolever, Goldfien und Page (1961) durchströmten wie auch Goerke, McKean und Margolis (1961) nur Placenten, die durch Sectio caesarea erhalten wurden, um eine Verfälschung der Ergebnisse durch Bakterienverunreinigungen auszuschließen.

Die Vielzahl der verschiedenen benutzten Methoden zur künstlichen Perfusion isolierter menschlicher und tierischer Placenten und die daraus resultierenden, oft stark voneinander abweichenden Ergebnisse führten dazu, daß bereits Küstner und Siedentopf (1929) folgende Forderungen für einen guten Durchströmungsversuch aufstellten:

- "1. Verwendung möglichst frischen Versuchsmaterials.
2. Durchströmung mit einer physiologischen Flüssigkeit.
3. Durchblutung unter Einhaltung physiologischer Bedingungen wie Körpertemperatur, Sauerstoffversorgung und natürlicher Stromrichtung."

Schniewind (1960) ergänzte diese Forderungen, indem er von einer Perfusionsanordnung verlangte, daß

- "1. Druck, Temperatur und Zusammensetzung der in die Nabelschnurarterien fließenden Perfusionslösung variabel sein müssen und über eine längere Zeit konstant gehalten werden können.
2. die Placenta bei konstanter Temperatur vollständig in ein Flüssigkeitsbad eintaucht, da Temperaturänderung und Eintrocknen der fetalen Oberfläche die Ergebnisse stark verfälschen (Schmitt 1922).
3. Retention von Flüssigkeit im Organ (Ödem) oder Durchtritt von der fetalen, durchströmten Seite durch das Zottensyncytium zur mütterlichen Seite (Verletzung oder Diffusion) schnell erkennbar und meßbar sein müssen.
4. die Meßwerte, arterieller Druck oder venöser Ausfluß, kontinuierlich und direkt registriert werden können."

Genau nach diesen Forderungen entwickelte er eine Versuchsanordnung, die im folgenden noch genauer beschrieben werden wird.

Zu Beginn der Ausführungen über die Wirkung der verschiedenen untersuchten Pharmaka auf den fetalen Placentar-Kreislauf soll ein kurzer Überblick über die Anatomie und speziell die Hämodynamik der menschlichen Placenta gegeben werden.

ANATOMIE und HÄMODYNAMIK DER PLACENTA (nach Stieve, Snoeck, Stoeckel und Martius)

Die Placenta ist das wichtigste Stoffwechselorgan des Fetus während seines intrauterinen Lebens. Sie dient der Atmung und Ernährung der Frucht und dem Stoffaustausch zwischen Mutter und Fetus. Weiterhin hat sie die Fähigkeit, Hormone zu bilden. Sie entsteht durch innige Aneinanderlagerung des vaskularisierten Chorion mit der Uterusschleimhaut. Die Hauptmasse der Placenta wird von den Chorionzotten gebildet, die sich aufgliedern in Zottenstämme, Zottenäste und weitverzweigte Endorgane. Die Zottenstämme gehen von der dem Fetus zugekehrten Chorionplatte ab, teilen sich in Zottenstämme zweiter Ordnung und diese wieder in solche dritter Ordnung. Die Zottenstämme dritter Ordnung bilden ein oder mehrere Schlingen, verankern sich in der Basalplatte und wachsen auf eine kurze Strecke in den intervillösen

Raum zurück. Die Zotten nehmen im 5. Monat der Schwangerschaft an Zahl zu, ihr Durchmesser verkleinert sich und gegen Ende der Schwangerschaft überzieht Fibrinoid einen Teil ihrer Oberfläche. Die Basalplatte ist der mütterlichen Seite zugewandt. Sie besteht vom intervillösen Raum zur Decidua hin aus Resten des Syncytiotrophoblasten, dem Nitabuchschens Fibrinoid und der Zona compacta der Decidua. Die Zottenstämme sind mit der Basalplatte durch Haftzotten fest verbunden. Von der Basalplatte gehen ab dem 4. Schwangerschaftsmonat die Septae placentae aus, die den intervillösen Raum, allerdings unvollständig, in 14 bis 30 Cotyledone unterteilt. Jedes Cotyledon enthält einen Zottenstamm erster Ordnung und einen vollständigen Zottenbaum.

Da die Placentarsepten nicht bis zur Chorionplatte reichen, verbindet ein kontinuierlicher Blutsee die Cotyledonen unter der Chorionplatte. Die uteroplacentaren Arterien liegen in der Mitte der Cotyledonen und über sie strömt das mütterliche arterielle Blut in den intervillösen Raum. Im myoendometrialen Anteil haben sie einen Durchmesser von 20 my, in der Höhe der Basalplatte von 200 my. Der venöse Abfluß des Blutes aus dem intervillösen Raum erfolgt über ein venöses System, das aus zahlreichen über die Basalplatte verteilten Einmündungen besteht (Stieve), deren Durchmesser 400 bis 800 my beträgt. (Hamilton; Boyd; Ramsey; Wilkin). Der Blutstrom des Fetus innerhalb der Placenta verläuft in den Kapillaren und Gefäßen der Zottenstämme, die durch Haftzotten an den Wänden der Cotyledonen befestigt sind und ist damit völlig vom mütterlichen Blut geschieden. Über dieses Kapillarnetz der Zottenstämme vollzieht sich der Stoffaustausch zwischen Mutter und Fetus. Neben diesem klassischen Zottenkapillarnetz besteht, nach Bøe, v. Mikulicz-Radecki und Brunsch, noch ein schleierartiges paravasculäres Netz, das sich unter der syncytialen Auskleidung der Zottenstämme befindet und mit den Gefäßen dieser Äste durch kommunizierende Äste verbunden ist. Jeder Cotyledon scheint für die mütterlichen und fetalen Blutwege eine Einheit darzustellen. Das mütterliche Blut gelangt mit einem Druck von 70 bis 80 mm Hg in den intervillösen Raum. Dieser Blutstrom richtet sich gegen die Chorionplatte und fließt dann zu den Venen der Basalplatte ab.

Der venöse Druck beträgt ca. 8 mm Hg. Am Übergang zwischen Myo- und Endometrium lokalisierte vasomotorische Mechanismen regulieren wahrscheinlich das Volumen des mütterlichen Blutes in der Placenta. Das Blutvolumen des intervillösen Raumes beträgt etwa 175 bis 250 ml (Vokaer und Vanden Eynde; Rosa und De Blicke; Jonen), das Minutenvolumen des mütterlichen Blutes in der Placenta 500 bis 600 ml (Browne und Veall; J. C. McClure Browne). Als treibende Kräfte für die Bewegung des Blutes in der Placenta sind die vom müt-

terlichen Herzen ausgehenden arteriellen Pulsdruckwellen, die Volumenschwankungen der Zotten infolge des fetalen Pulses und die rhythmischen Kontraktionen des Uterusmuskels anzusehen. Über die hämodynamischen Bedingungen, die für die Regulierung der Blutzirkulation im fetalen Blutkreislauf maßgebend sind, ist noch wenig bekannt. Nach Margolis, Orcutt und Assali herrscht in der Nabelarterie ein durchschnittlicher Druck von 48 mm Hg, in den Nabelvenen von 24 mm Hg. Der in den Zottenkapillaren herrschende Druck liegt zwischen beiden Werten. Das fetale Blut wird in den Placentar-Kapillaren durch die vasomotorischen Reaktionen der Präkapillaren und durch die Kraft des fetalen Pulses vorwärtsgetrieben.

Die heutigen Kenntnisse der Physiologie der menschlichen Placenta sind vor allem der Tatsache zu verdanken, daß man Probleme des Eigenstoffwechsels, der Hormonproduktion oder der Permeabilität des Zottensyncytiums, ebenso wie die Frage der unmittelbaren Gefäßwirkung einiger Pharmaka an einer isolierten Placenta zu prüfen vermag, die durch Perfusion mit physiologischen Lösungen künstlich am Leben erhalten wird. Will man zum Beispiel die Wirkung eines bestimmten Pharmakon auf die fetalen Gefäße prüfen, so kann man mit der Methode der Perfusion der isolierten Placenta eine Substanz direkt auf das Organ einwirken lassen, ohne daß die Ergebnisse dadurch verfälscht werden können, daß die Substanz vorher noch andere Organe passieren muß.

Die von Schniewind (1960) verwendete Versuchsanordnung zur Durchströmung menschlicher Placentargefäße erlaubt die Perfusion frisch gewonnener menschlicher Placenten über mehrere Stunden, unter weitgehender Berücksichtigung der physiologischen Daten und bei erhaltener Ansprechbarkeit des fetalen Kreislaufs auf vasoaktive Pharmaka. Mit Hilfe dieser Apparatur wurde experimentell die Beeinflussung der Hämodynamik perfundierter menschlicher Placenten durch Coffein, Pervitin und Serotonin, des weiteren die Wirkung des Glykosid Strophanthin-k auf den aktiven Kaliumrücktransport in der künstlich am Leben erhaltenen Placenta untersucht.

MATERIAL UND METHODE

A) Beschreibung der Apparatur (Abb.1)

Die leicht abgeänderte Arbeitsweise der Apparatur soll hier nur kurz beschrieben werden. (Genauerer siehe: Schniewind, Z.f.d.ges.exp.Med. 132, 1960).

Die Perfusionslösung befand sich in Plastikflaschen, die in einem Wasserbad standen und durch einen Umlaufthermostaten auf eine Temperatur von 37°C erwärmt wurde. Den Thermostaten steuerte ein Kontaktthermometer.

Während des ganzen Versuchs wurde die Perfusionslösung mit einem Gemisch von 95% Sauerstoff und 5% Kohlendioxyd begast. Eine Rollpumpe förderte die Perfusionslösung in ein Röhrensystem, an das die Placenta angeschlossen war und sorgte für den gewünschten Druck im System.

In dieses Röhrensystem war eine Vorrichtung eingebaut, die durch ihre elastischen Wände, ähnlich der Windkesselfunktion der Aorta, Druckschwankungen ausglich und so eine gleichmäßige Durchströmung ermöglichte. Mit Hilfe eines zwischengeschalteten Rotameters konnte man die Einflußmenge pro Minute messen. Um Meßfehler zu vermeiden, wurden während der Versuchsreihe wiederholt Rotameterreichungen durchgeführt und Eichkurven angelegt. Hinter dem Rotameter erwärmte sich die Perfusionslösung mittels einer mit dem Umlaufthermometer verbundenen Wärmespirale nochmals auf 37°C . Die Temperatur der Perfusionslösung wurde dann unmittelbar bevor sie in die Placentargefäße gelangte, noch einmal durch ein Kontaktthermometer überprüft.

Den im System herrschenden Druck konnte man mittels eines graduierten Steigrohres, das zwischen Rotameter und Kontaktthermometer eingebaut war, messen. Luft, die in das System gelangte, wurde über verschiedene eingebaute Luftfallen isoliert und konnte so nicht zu unerwünschten Zwischenfällen während der Durchströmung führen.

Die Placenta lag von Beginn des Versuchs an in der gleichen Perfusionslösung, mit der sie durchströmt wurde. Auch diese Badflüssigkeit wurde mit einem Gemisch von 95% Sauerstoff und 5% Kohlendioxyd begast und mit Hilfe eines Umlaufthermometers auf einer Temperatur von genau 37°C gehalten. Um die Ausflußgeschwindigkeit aus der Nabelschnurvene messen zu können, war die Vene ebenfalls kanüliert und in das angeschlossene Glasrohr als Flußmesser ein Blasenähler eingebaut.

Auch hier wurden während der Versuchsreihe regelmäßig Eichungen durchgeführt, indem mit Stoppuhr und Meßzylinder die Flußmenge in der Zeiteinheit und dann aus dem Integral über längere Zeit hin der kontinuierliche Ausfluß errechnet wurde. Durch die ständige Messung von Ein- und Ausfluß konnte

Aufbau der Apparatur

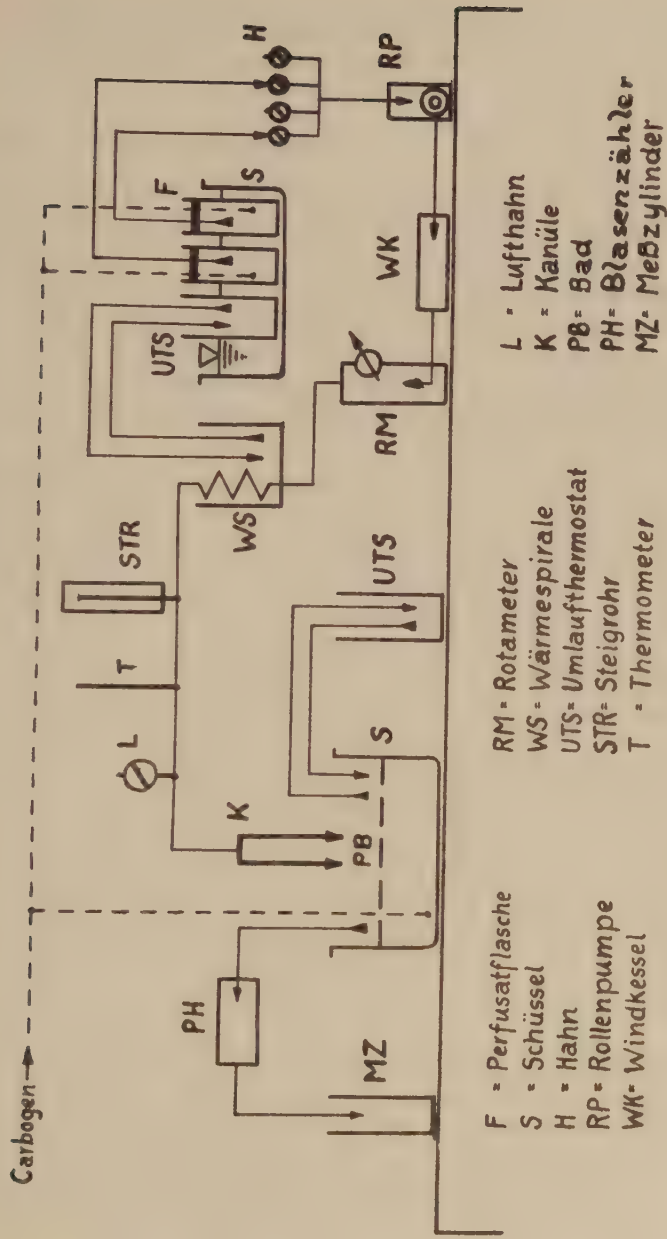


Abb. 1: Skizze der leicht abgeänderten Apparatur nach Schniewind, Z.f.d.ges.exp.Med. 132, 1960.

eine Retention von Flüssigkeit bzw. ein Durchtritt von der durchströmten fetalen nach der materalen Seite der Placenta, infolge Verletzung oder Diffusion, sofort festgestellt werden.

B) Durchführung des Versuches

Die Placenten stammten von gesunden Schwangeren nach normaler Tragzeit. Sie wurden sofort nach ihrer Geburt gewogen, gemessen, auf Vollständigkeit geprüft und nach Entfernung der Eihäute in die Badflüssigkeit gebracht, in die sie völlig eintauchten und die, wie bereits beschrieben, aus der jeweiligen Perfusionslösung bestand. Die Nabelschnur der Placenta wurde ca. 5 cm vor der Insertion durchgeschnitten, beide Nabelschnurarterien kanüliert und durch elastische Schläuche mit dem Röhrensystem der Apparatur verbunden. Auf die gleiche Art wurde die Nabelschnurvene mit dem gläsernen Abflußrohr verbunden.

Die Durchströmung begann spätestens 15 Minuten nach Geburt der Placenta bei einem Druck von 100 mm Wassersäule = 73,5 torr. Dieser Druck im System der Perfusionsanordnung wurde während der gesamten Versuchsdauer konstant gehalten. Eine Injektion von 500 IE Heparin zu Beginn jedes Versuches sollte eine Thrombosierung der Placentargefäße verhindern. Trotzdem kam man, wie bereits Thomsen und Schniewind (1960) feststellten, nur 30-35% der Placenten völlig intakt zum Versuch. Diese Zahl verbesserte sich bei Placenten, die nach Metherginprophylaxe gewonnen wurde. Dabei bekamen die Patientinnen sofort nach Geburt des Kindes 0,1 mg Methergin (Sandoz) intravenös injiziert. Nach einer Latenzzeit von 1/2 bis 1 1/2 Minuten kam es darauf zur Geburt der Placenten, die im Vergleich zu den natürlich geborenen in weitaus geringerer Zahl thrombosiert und so für den Versuch unbrauchbar waren. Gleich zu Beginn jeder Durchströmung wurde der Perfusionslösung eine Farblösung (Methylenblau) zugesetzt, um makroskopisch nicht sichtbare Verletzungen der Placenta zu erkennen und um festzustellen, ob sämtliche Cotyledonen durchströmt waren. Weiter war es wichtig zu wissen, von welchem Zeitpunkt an die Zellen des isolierten Organs abstarben und eine Durchströmung unphysiologisch wurde.

Nach Rein-Schneider bestehen in physiologischem Zustand erhebliche Differenzen in der Ionenverteilung zwischen den Zellen und der diese umgebenden Flüssigkeit. Die Kaliumkonzentration ist im Zellinneren wesentlich größer als in der Außenflüssigkeit, die Natrium- und Chloridkonzentration dagegen wesentlich kleiner. Zwar passieren laufend Ionen die Zellmembran, doch

wird durch einen noch nicht endgültig geklärten, aktiven Mechanismus das ursprüngliche Verhältnis immer wieder hergestellt, so daß letztlich die intrazelluläre Kaliumkonzentration konstant bleibt. Wird die Außenflüssigkeit hingegen durch künstliche Perfusion mit verschiedenen Elektrolytlösungen verändert, so kommt es leicht zu einer Schädigung der Zellen, wobei meist der aktive Kaliumrücktransport gehemmt wird. Die Zellen verlieren dann während der Perfusion Kalium, das in die Perfusionslösung abgegeben wird. Auf diesen Überlegungen fußend, bildete das Ansteigen des Kaliumgehaltes in der ausströmenden Flüssigkeit gegenüber dem Kaliumgehalt der frischen Perfusionslösung, ein Kriterium für die Schädigung der Gewebszellen des durchströmten, isolierten Organs. Allerdings war dabei zu berücksichtigen, daß der Anstieg des Kaliumgehaltes während der ersten Phase der Durchströmung auch durch die Zerstörung von Erythrocyten bedingt sein könnte. Deshalb wurde jede Placenta zunächst zwanzig Minuten lang ohne Probeentnahme durchströmt, um das Blut aus den Gefäßen herauszuwaschen. Erst danach wurden Proben in kurzen Abständen entnommen, zentrifugiert und unmittelbar danach mit Hilfe des Flammenphotometer 'Eppendorf' ihr Gehalt an Kalium bestimmt. Während des Versuches wurden laufend Ein- und Ausflußmessungen durchgeführt, der Druck konstant auf 100 mm Wassersäule = 73,5 torr. gehalten und vor jeder Messung darauf geachtet, daß Druck und Einflußgeschwindigkeit sich nicht änderten. Der Vergleich der Ein- und Ausflußkurven bei einem jeden Perfusionsversuch bildete eine weitere Methode zur Überprüfung der Intaktheit des isolierten Organs, wie schon bei K. Thomsen und H. Schniewind (1960). Beide müssen als Zeichen für eine intakte Placenta parallel verlaufen. Kommt es zu einer größeren Divergenz der Kurven, so deutet das auf eine erhöhte Durchlässigkeit des Zottensyncytiums. Um die Wirkung der einzelnen Pharmaka auf die fetalen Gefäße zu prüfen, wurde das entsprechende Pharmakon in einer zweiten Plastikflasche der Perfusionslösung in steigenden Dosen zugesetzt. So konnte man durch einfaches Öffnen eines Verteilerhahnes auf das jeweils zu untersuchende Perfusat umschalten und die Effekte beobachten.

C) Das Perfusat

Bevor die eigentlichen Versuche mit der Frage nach der Wirkung von Coffein, Pervitin und Serotonin auf den fetalen Placental-Kreislauf und der Frage nach der Wirkung des Glykosid Strophanthin-k auf den aktiven Kaliumrücktransport in der künstlich am Leben erhaltenen Placenta begannen, war in einer weiteren Arbeit auf Anregung von Professor K. Thomsen aus sechs verschiedenen Perfusionslösungen die physiologischste Lösung zur Durchströmung von isolierten menschlichen Placenten ermittelt worden.

Folgende sechs Perfusionslösungen waren untersucht worden:

1. Tyrode mit Glucose
2. Tyrode ohne Glucose
3. 0,8%ige NaCl-Lösung mit Glucose
4. 0,9%ige NaCl-Lösung mit Serumzusatz und Glucose
5. Macrodex, welchem Salze und Glucose zugefügt waren
6. Periston mit Zusatz von Glucose

Zusammensetzung der Tyrode:

1 Ltr. Aqua dest. enthielten:

NaCl:	8,0 g (0,8 %)	oder umgerechnet	136,84	Millimol
KCl:	0,2 g (0,02 %)	"	2,68	"
CaCl ₂ :	0,2 g (0,02 %)	"	1,80	"
NaHCO ₃ :	1,0 g (0,10 %)	"	11,90	"
NaH ₂ PO ₄ :	0,05 g (0,005 %)	"	0,42	"
Glucose	1 g (0,1 %)	(nur bei Tyrode mit Glucose)		

Zusammensetzung der Na-Cl-Lösung

1 Ltr. Aqua dest. enthielt:

NaCl:	8 g (0,8 %)	oder umgerechnet	136,84	Millimol
Glucose:	1 g (0,1 %)			

Zusammensetzung der NaCl-Serum-Lösung

1 Ltr. Aqua dest. enthielt:

NaCl:	9 g (0,9 %)	oder umgerechnet	153,95	Millimol
-------	-------------	------------------	--------	----------

1 Ltr. dieser 0,9%igen NaCl-Lösung wurden 83,33 ml Humanserum zugesetzt. Demzufolge entkamen auf 12 Teile 0,9%ige NaCl-Lösung 1 Teil Humanserum; die Lösung enthielt also 7,7% Humanserum. Dazu kam noch ein Gehalt von 0,1% Glukose.

Macrodex-Lösung (Zusammensetzung)

Es wurde das Macrodex der Firma Knoll verwendet.

1 Lr. Aqua dest. enthielt:

Macrodex:	60,00 g (6,000 %)	oder umgerechnet	0,80	Millimol
NaCl:	9,00 g (0,900 %)	"	153,95	"
Außerdem folgende Zusätze:				
KCl:	0,20 g (0,020 %)	"	2,68	"
CaCl ₂ :	0,20 g (0,020 %)	"	1,80	"
NaHCO ₃ :	1,00 g (0,100 %)	"	11,90	"
NaH ₂ PO ₄ :	0,05 g (0,005 %)	"	0,42	"
Glucose:	1,00 g (0,100 %)			

Periston-Lösung (Zusammensetzung)

Das Periston stammte von der Firma Bayer.

1 Ltr. Aqua dest. enthielt:

Polyvinylpyrrolidon:	40,0	g (4 %)	oder umgerechnet	1,33	mMol
NaCl:	7,0	g (0,7 %)	" "	119,74	"
KCl:	0,42	g (0,42 %)	" "	5,63	"
CaCl ₂ :	0,5	g (0,05 %)	" "	4,50	"
MgCl ₂ :	0,005	g (0,0005 %)	" "	0,05	"
NaHCO ₃	0,250	g (0,025 %)	" "	2,98	"

Außerdem wurden 0,1% Glucose zugesetzt.

Als Perfusionslösung bewährte sich am besten eine 6% Dextran enthaltende Tyrodelösung mit 1 % Glucose. Versuche mit dieser Lösung ergaben den geringsten Kaliumverlust des durchströmten Organs.

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Es wurde in vorliegender Arbeit an insgesamt 55 intakten, reifen, künstlich am Leben erhaltenen menschlichen Placenten die Wirkung von Coffein, Pervitin und Serotonin auf den Gefäßwiderstand im fetalen Placentar-Kreislauf geprüft. Des weiteren die Wirkung von Strophanthin-k auf den aktiven Kaliumrücktransport in der Placenta. Die Prüfung der Wirkung von Coffein, Pervitin und Serotonin wurde unter genau gleichbleibenden Versuchsbedingungen vorgenommen. Es interessierte dabei vor allem die Änderung des Gefäßwiderstandes im venösen Schenkel, in Abhängigkeit von der Dosis des zugesetzten Pharmakons und die daraus resultierende Flußreduktion. Da bei den Versuchen der Druck im Durchströmungssystem immer gleichbleibend auf 73,5 torr = 100 cm Wassersäule gehalten wurde, konnte sich bei einem Ansteigen des Gefäßwiderstandes als Variante des Pharmakons nur das Stromzeitvolumen ($\dot{V}$) ändern. Abb.2 zeigt den Verlauf des Durchflusses ($\dot{V}$) in Millilitern je Minute, umgerechnet auf 100 g Placentagewicht, in Abhängigkeit von der Versuchszeit bei einem normalen Durchströmungsversuch. Dabei resultiert die allmähliche Flußabnahme aus dem mit wachsender Versuchsdauer zunehmenden Gefäßwiderstand. Läßt man nun für eine bestimmte Zeit ein Pharmakon in festgelegter Konzentration auf den fetalen Placentar-Kreislauf einwirken, so kommt es, insofern das Medikament eine Änderung des Gefäßwiderstandes bewirkt, zu einer Verringerung und Verlangsamung des Durchflusses, wie Abb.3 es nach Gabe von Serotonin deutlich macht. Abb.4 zeigt die Abhängigkeit der Flußreduktion des Perfusates von der Dosis eines zugesetzten, gefäßwirksamen Pharmakons am Beispiel des Serotonin.

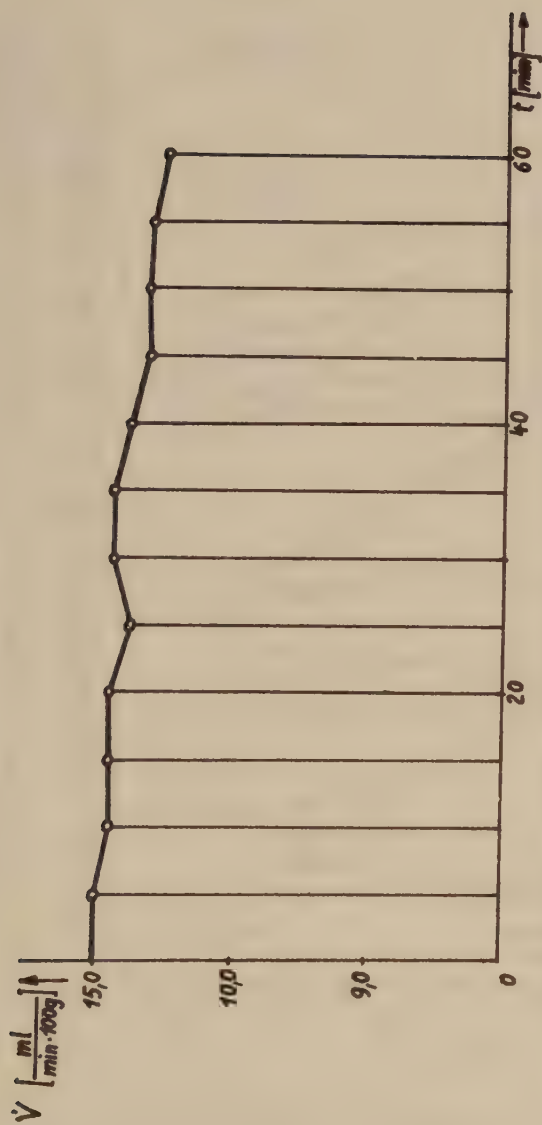


Abb. 2: Normale Flußkurve bei Perfusion mit 6% Dextran enthaltender Tyrodelösung mit 1% Glucose.

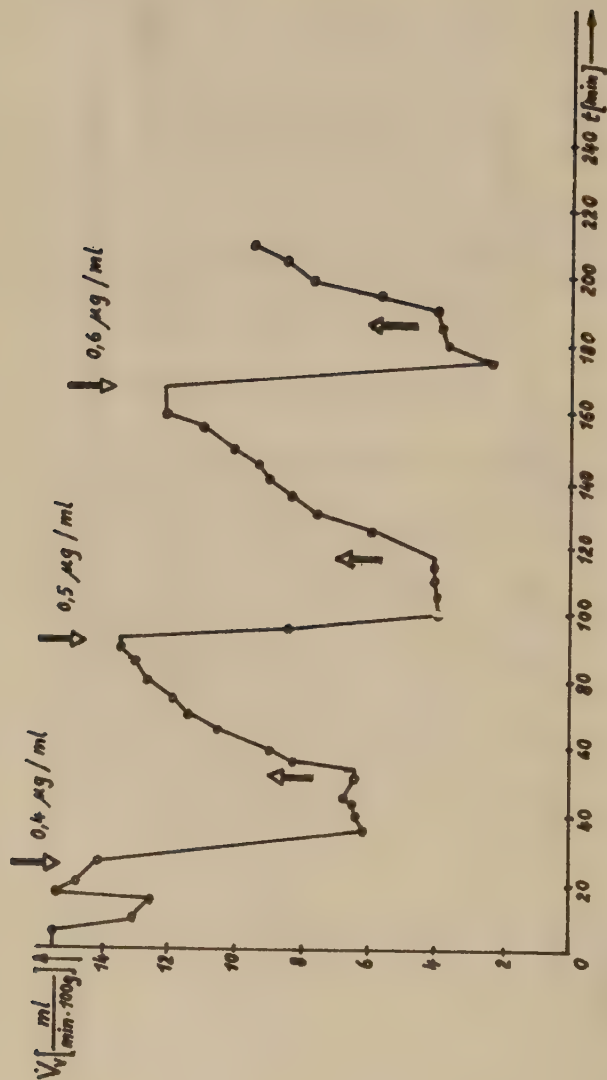


Abb. 3: Auf Gaben von 0,4 Mikrogramm/ml, 0,5 Mikrogramm/ml und 0,6 Mikrogramm/ml Serotonin erfolgt jeweils eine starke reversible Vasokonstriktion. Keine Tachyphylaxie.

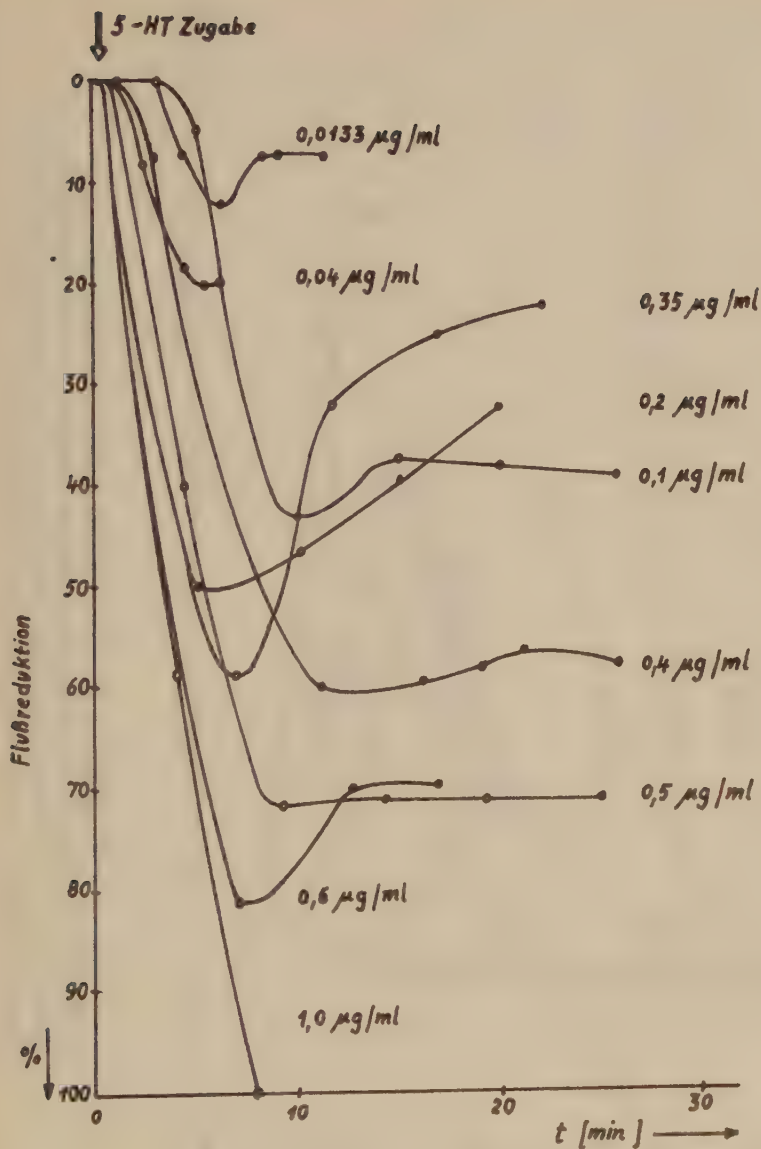


Abb. 4: Im Dosisbereich von 0,0133 bis 1 Mikrogramm/ml Serotonin ergibt sich eine deutliche Dosis-Abhängigkeit.

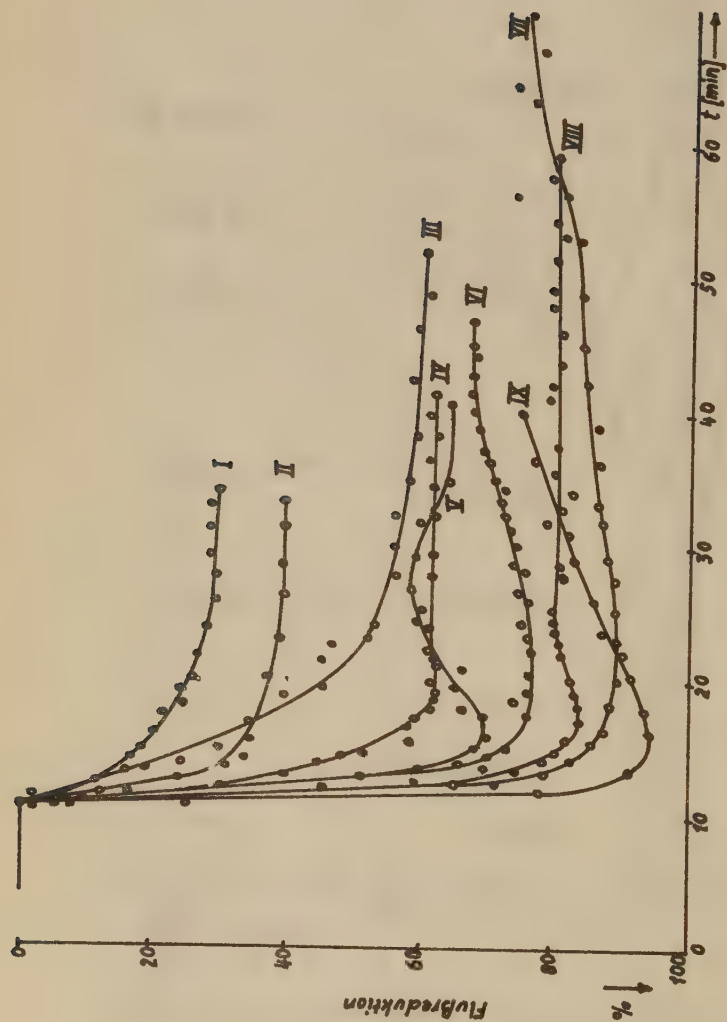


Abb. 5: Gleichartige Dosis-Abhängigkeit in der Wirkung des Serotonins auf die Gefäße der perfundierten Rattenniere (nach Passow, Schniewind und Weiss 1960) 5-HT-Konzentrationen steigend von I - IX: 0,034; 0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 Mikrogramm 5-HT/ml Perfusionsflüssigkeit. Zeit in Minuten nach Beginn der Durchströmung mit Dextran.

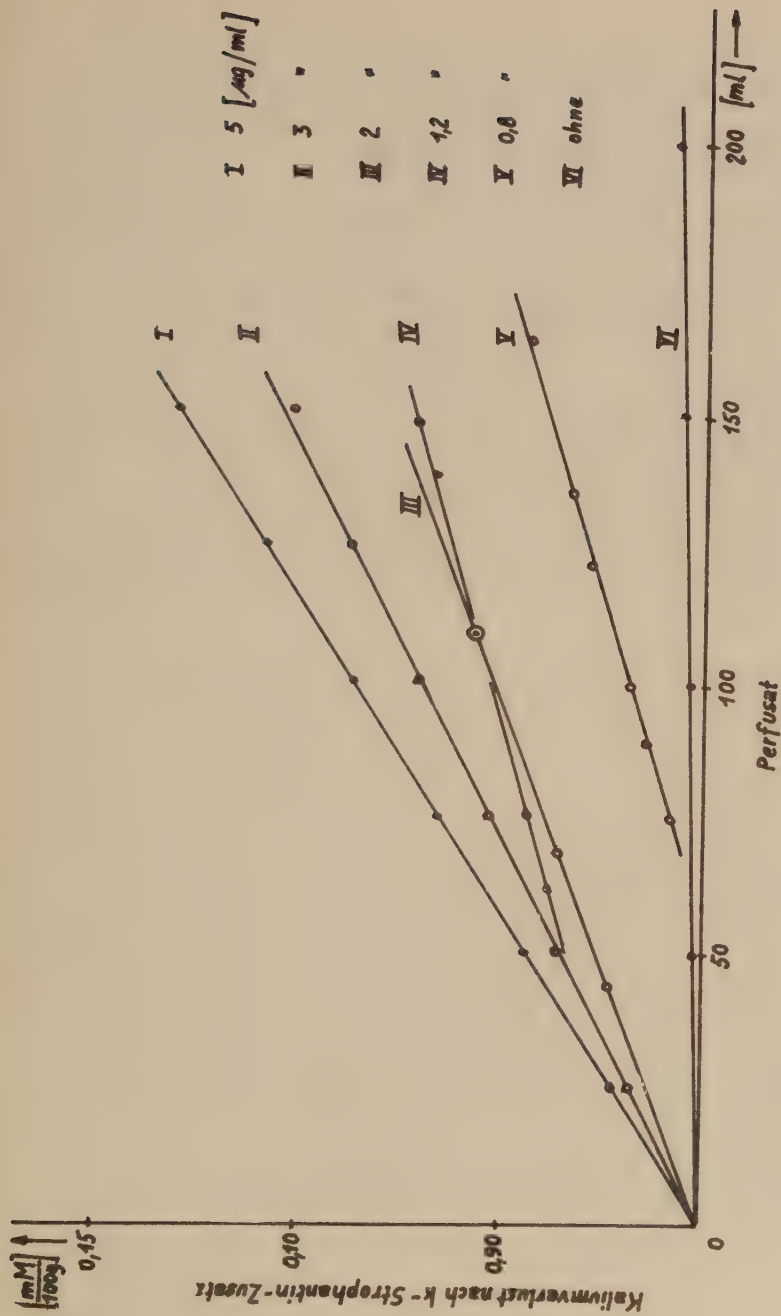


Abb. 6: Der Kaliumverlust nach Zusatz von Strophanthin-k zur Perfusionslösung

Die Versuche ergaben bei Coffein im Dosisbereich von 0,4 bis 4 Mikrogramm/ml keine Gefäßwirkung, ebenso bei Pervitin im Bereich von 30 bis 90 Mikrogramm/ml. Bei der Prüfung von Serotonin, dem 5-Hydroxytryptamin fand sich im Perfusionsversuch jeweils eine starke, reversible Vasokonstriktion, die im Bereich von 0,01 bis 1 Mikrogramm/ml eindeutig dosisabhängig war (siehe Abb.3 und 4).

Eine gleichartige Dosisabhängigkeit in der Wirkung des Serotonin auf die Gefäße der perfundierten Rattenniere hatten bereits Passow, Schniewind und Weiss (1960) nachgewiesen (Abb.5). Des weiteren wiesen Aström und Samuelius (1957) sowie Schmermund, Rodegra und Soehring (1959) nach, daß Serotonin zum Beispiel in einer Konzentration von 0,1 Mikrogramm/ml zu einer Kontraktion der Nabelschnurgefäße führt.

Auffällig war bei den Versuchen, daß stets gegen Ende der Perfusion mit Serotonin, also dem Augenblick, in dem auf das pharmakonfreie Perfusat zurückgeschaltet wurde, sich der Gefäßwiderstand auf einen bestimmten, dosisabhängigen Wert einspielte (siehe Abb.4). Eine Erklärung für diese Beobachtung bietet vielleicht die Theorie Erspamers (1953), auf die später noch genauer eingegangen werden soll. Auch nach schnell aufeinanderfolgenden Gaben von Serotonin war keine Abnahme der Wirkung - Tachyphylaxie - zu beobachten.

Da das Glykosid Strophanthin-k unter anderem den aktiven Kaliumrücktransport hemmen kann (Schatzmann, H.J. 1953), schien es von Interesse festzustellen, ob auch in der durch Perfusion künstlich am Leben erhaltenen, isolierten menschlichen Placenta dieser aktive Kaliumrücktransport durch Gabe von Strophanthin-k zu hemmen ist.

Um diese Frage beantworten zu können, wurde der Perfusionslösung Strophanthin-k in verschiedener Dosierung zugesetzt und dabei bei konstant gehaltenem Druck der Durchfluß und die Kaliumkonzentration im venösen Ausfluß beobachtet. Durch graphische Integration der jeweils nach der Art von Abb.2 angelegten Kurven war die Menge an Perfusat bekannt, die bis zu den Entnahmen der Kaliumproben durch das Organ geflossen war. Danach wurde die bei jeder Probeentnahme gemessene Kaliumkonzentration gegen das bis zu diesem Zeitpunkt durch die Placenta geflossene Perfusativolumen aufgetragen. Die Fläche unter dieser Kurve ergab so, wieviele mM Kalium von 100 g der Placenta jeweils zur Zeit der Probeentnahme an das Perfusat abgegeben waren. Bei den Versuchen zeigte sich, wie Abb.6 veranschaulicht, daß mit wachsender Dosis an zugesetztem Strophanthin-k der Kaliumverlust im durchströmten Organ größer wird.

DISKUSSION

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß Serotonin an der isolierten, mit 6% Dextran und 1 %o Glucose enthaltender Tyrodelösung durchströmten menschlichen Placenta eine reversible und in ihrem Ausmaß eindeutig dosisabhängige Widerstandserhöhung hervorruft. Flückiger und Salzmann (1961) haben darauf hingewiesen, daß subcutan verabreichtes Serotonin bei Ratten und Mäusen bereits in geringer Konzentration zum Tode der Früchte führt. Diese Beobachtung, wie auch die schon angeführten Veröffentlichungen von Passow, Schniewind und Weiss (1960), Aström und Samelius (1957) und Schmermund, Rodegra und Soehring (1959), fordern den Vergleich mit den bei der Prüfung an der isolierten menschlichen Placenta erhaltenen Ergebnissen heraus. Deshalb ergibt sich nun die Frage, ob Serotonin, das ja ein körpereigener Wirkstoff ist, der zum Beispiel beim Zerfall von Thrombozyten frei wird und dessen Einfluß auf die Durchblutung selbst in so geringen Konzentrationen, wie sie beispielsweise dem normalen Serotoningehalt des Blutes beim Neugeborenen entsprechen (Espamer 1954), bei vielen Organen nachgewiesen ist, die Placentaschranke in Richtung Mutter - Fetus überschreiten kann. Da nach den Ergebnissen von Schmermund, Rodegra und Soehring (1959) die kontraktile Wirkung von Serotonin auf das fetale Gefäßsystem der Placenta wohl ausschließlich einer Wirkung auf das arterielle System entspricht, ist gleichzeitig nachzuprüfen, ob sich ähnliche Effekte wie bei der künstlichen Durchströmung des fetalen Placentar-Kreislaufes auch bei Perfusion von der materalen Placentaseite her nachweisen lassen.

Ersparmer (1953) schrieb dem Serotonin eine elektive Kontrollwirkung auf den Tonus der kontraktilen Elemente der Vasa efferentia zu den Glomerula zu und bezeichnete es als "Hormon für die physiologische Regulation der Nierenfunktion und Haemodynamik". Passow, Schniewind und Weiss (1960) untermauerten diese Theorie Ersparmers, indem sie mittels künstlicher Perfusion isolierter Rattennieren zeigten, daß bei Dauerperfusion mit einer gegebenen Konzentration an Serotonin, nach einer kurzen Einstellperiode, ein bestimmter, dosisabhängiger Gefäßwiderstand erreicht und beibehalten wird. Auch bei den Durchströmungsversuchen an der isolierten, reifen menschlichen Placenta war festzustellen, daß sich der Gefäßwiderstand, immer gegen Ende der Perfusion mit der jeweils gewählten Konzentration an Serotonin, auf einen bestimmten, dosisabhängigen Wert einregulierte. Auf Grund dieser Beobachtungen wäre es denkbar, daß das Serotonin, analog der Theorie Ersparmers, eine Bedeutung als physiologischer Regulator für die placentare Durchblutung hat. Für diese Annahme spricht auch die Tatsache, daß sich nach kurz aufeinanderfolgenden Durchströmungen mit Serotonin bei den Perfusionsversuchen an der isolierten

Placenta kein Abfall der Wirkung - Tachyphyllaxie - zeigte. Die Beantwortung all jener Fragen muß im Anschluß an diese Arbeit im Tierexperiment geklärt werden, da es dazu notwendig ist, auf beiden Seiten der syncytialen Membran Messungen vorzunehmen und diese Versuche an geborenen menschlichen Placenten nicht durchführbar sind. Eine Durchströmung des intervillösen Spalts kann nicht in einer den physiologischen Verhältnissen entsprechenden Weise nachgeahmt werden.-Im Zellinnern lebender Gewebszellen ist die Kaliumkonzentration viel höher als im Außenmilieu, die Natrium- und Chloridkonzentration dagegen verhält sich genau umgekehrt. Durch einen noch nicht endgültig geklärten aktiven Mechanismus wird dieses Verhältnis immer wieder hergestellt, so daß im Endeffekt die intracelluläre Kaliumkonzentration konstant bleibt. Von dem Glykosid Strophanthin-k ist bekannt, daß es unter anderem den aktiven Kaliumrücktransport zu hemmen vermag (Schatzmann, H.J.; 1953). Da nun der Kaliumverlust bei Durchströmung mit Strophanthin-k enthaltender Lösung in Abhängigkeit von der Dosis anstieg (siehe Abb.6), läßt sich daraus schließen, daß auch während der künstlichen Perfusion der Placenta ein aktiver Rücktransport von Kaliumionen stattfindet und ein steigender Kaliumverlust als Kriterium einer Zellschädigung zu bewerten ist.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde mit Hilfe einer Apparatur zur Durchströmung menschlicher Placentargefäße an 55 intakten, reifen menschlichen Placenten die Wirkung verschiedener Pharmaka auf den fetalen Placentar-Kreislauf geprüft. Als Perfusionslösung diente eine 6% Dextran enthaltende Tyrodelösung mit 1‰ Glucose. Die Versuche ergaben bei Coffein im Dosisbereich von 0,4 bis 4 Mikrogramm/ml und bei Pervitin im Bereich von 30 bis 90 Mikrogramm/ml keine Gefäßwirkung. Nach Zugabe von Serotonin, dem 5-Hydroxytryptamin, fand sich eine deutliche reversible Vasokonstriktion, die im Bereich von 0,01 bis 1 Mikrogramm/ml eindeutig dosisabhängig war. Serotonin zeigte bei den Versuchen keine Tachyphyllaxie. Das Glykosid Strophanthin-k führte, in Dosen von 0,8 bis 5 Mikrogramm/ml der Perfusionslösung zugesetzt, zu einem Kaliumverlust im durchströmten Organ, der mit wachsender Dosis größer wurde.

LITERATUR-VERZEICHNIS

- Aström, A.; Samelius, U.: *Brit.J.Pharmacol.* 12, 410 (1957)
- Assali, N.S.; Rauramo, L.; Peltonen, T.: *Obstetr.Gynec.* 79, 86 (1960)
- Bøe, F.: *Acta obstetr.gynec.Scand.* 32, Suppl.5, 1 (1953)
- Browne, J.C.; Veall, N.: *J.Obstetr.Gynec.Brit.Emp.* 60, 141 (1953)
- Dawson, R.F.; Robson, J.M.: *Proc.Soc.exp.Biol.a.Med.* 43, 758-761 (1940)
- Eliasson, R.; Aström, A.: *Acta Pharmacol.* 11, 254 (1955)
- Erspamer, V.: *Arch.int.Pharmacodyn.* 93, 293 (1953)
- Erspamer, V.: *Pharmacol.Rev.* 6, 443 (1954)
- Flückiger, E.; Salzmann, R.: *Experientia* (Basel) 17, 131 (1961)
- Gebhard, R.; Bauer, G.: *Pers.Mitteilung, Univ.Frauenkl.Mainz*
- Goerke, R.J.; McKean, Ch.M.; Margolis, A.J.: *Am.J.Obstetr.a.Gynec.* 81, 1132 (1961)
- Hamilton, W.J.; Boyd, J.D.: *Proc.Soc.Med.* 44, 489 (1951)
- Jonen, P.: *Arch.Gynäk.* 129, 610 (1927)
- Küstner, H.; Siedentopf, H.: *Arch.Gynäk.* 138, 131 (1929)
- Margolis, A.J.; Orcutt, R.E.: *Amer.J.Obstetr.Gynec.* 80, 573 (1960)
- Martius, H.: *Lehrbuch der Geburtshilfe*, 6.Aufl., Stuttgart 1964, S.49-58
- Mayer, M.; Panigel, M.; Tozum, R.: *Gynéc.et Obstétr.* (Paris) 58, 391 (1958)
- McClure Browne, J.C.: *Geb.Frau.* 9, 1085 (1958)
- Mosso, W.: *Arbeiten aus der Physiol.Anst.Leipzig* 1873, S.305
- Passow, H.; Schniewind, H.; Weiss, Chr.: *Arch.exp.Path.Pharm.* 240, 179 (1960)
- Ramsey, E.M.: *Gestation. In: Transactions of the 2nd Conference. Ed.Villee, C.A., The Josiah Macy Jr. Foundation, New York 1956, S.229-251*
- Rech, W.: *Z.f.Biol.* 80, 231 (1924)
- Rosa, B.: *De Blieck, J.: Bull.Soc.belge gynéc. et obstétr.* 27, 386 (1957)

- Schatzmann, H.: *Helv. physiol. pharmacol. Acta* 11, 346 (1953)
- Schmermund, H.J.; Rodegra, H.; Soehring, K.: *Arch. Gynäk.* 191, 457 (1959)
- Schmitt, W.: *Z. f. Biol.* 75, 19 (1922) und *Z. f. Biol.* 79, 45 (1923)
- Schniewind, H.: *Z. ges. exp. Med.* 132, 577 (1960)
- Snoeck, J.: *Triangel*, März 1962, S. 178 u. *Le Placenta Humain*, Paris 1958
- Stieve, H.: *Anatomie der Placenta und des intervillösen Raumes*, in: Seitz-Amreich, *Biologie und Pathologie des Weibes*, Bd. 7, 2. Aufl., Berlin, Innsbruck, München, Wien 1952, S. 109-146
- Stoeckel, W.: *Lehrbuch der Geburtshilfe*, 13. Aufl., Jena 1961, S. 54-60
- Thomsen, K.; Schniewind, H.: *Arch. f. Gynäk.* 195, 463 (1961)
- Thomsen, K.: *Vortrag Mittelrhein. Ges. für Gynäk.*, Nov. 1961, *Ref. Zbl. Gynäk.* 35, 1243-45 (1962)
- Troen, E.E.; Gordon, P.: *J. Clin. Invest.* 37, 1516-23 (1958)
- v. Mikulicz-Radecki, F.; Bruntsch, K.H.: *Münch. Med. Wschr.* 102, 456-458 (1960)
- Vokaer, R.; Vanden Eynde, A.: in: J. Snoeck, *Le Placenta Humain*, Paris 1958, S. 81-107
- Woolever, C.A.; Goldfin, A.; Page, E.W.: *Am. J. Obstetr. a. Gynec.* 81, 1137 (1961)
- Wilkin, P.: *Gynéc. et obstétr.* 53, 239 (1954)

LEBENS LAUF

Ich wurde am 18. Dezember 1936 als Sohn des Bauingenieurs Heinrich Isselstein und seiner Frau Elisabeth, geb. Terhardt, in Meschede geboren.

Kurz nach meiner Einschulung in eine Wiesbadener Volksschule wurde meine Familie bei einem Fliegerangriff total ausgebombt und auf das Land, nach Hausen v.d.H., evakuiert, wo ich bis zum sechsten Schuljahr in die Dorfschule ging. 1949 bestand ich die Aufnahmeprüfung für das humanistische Gymnasium in Wiesbaden, das ich bis 1950 zusammen mit meinem um sechs Jahre älteren Bruder besuchte. Da der tägliche Schulweg von über 20 km Länge zu beschwerlich wurde, zog meine Familie nach Recklinghausen zu meinem Großvater. Dort mußte ich wegen Überfüllung des humanistischen Gymnasiums auf ein Realgymnasium umschulen. Als meine Familie 1952 wieder nach Wiesbaden zog, wechselte ich zurück auf das humanistische Dilthey-Gymnasium und bestand dort im Februar 1958 die Reifeprüfung.

Dann studierte ich an der Johannes Gutenberg-Universität zu Mainz Medizin und absolvierte am 20. Oktober 1959 die Naturwissenschaftliche und am 18. April 1961 die Ärztliche Vorprüfung. Während meiner klinischen Semester an der Johannes Gutenberg-Universität nahm ich regen Anteil an der studentischen Mitverwaltung und gehörte zwei Semester lang als Fachschaftsleiter dem Studentenparlament an. Am 31. Juli 1964 bestand ich vor dem Prüfungsausschuß in Mainz die ärztliche Staatsprüfung. Seit dem 15. Oktober 1964 bin ich als Medizinalassistent in den Städtischen Krankenanstalten zu Wiesbaden angestellt.

